

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen
Akademie der Justus Liebig-Hochschule in Gießen.
Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt.

Gießen

Die Wirkung des Verodigens auf das isolierte Froschherz und seine Bindung durch Serum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktor-Grades
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Hochschule
in Gießen

eingereicht von
Paul v. d. Wyenberg
Tierarzt aus Kevelaer/Ndrrh.

Gießen 1953

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen
Akademie der Justus Liebig-Hochschule in Gießen.

Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt.

Die Wirkung des Verodigens auf das isolierte Froschherz und seine Bindung durch Serum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktor-Grades
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Hochschule
in Gießen

eingereicht von
Paul v. d. Wyenbergh
Tierarzt aus Kevelaer/Ndrh.

Gießen 1953

Mit Genehmigung der Veterinär-Medizinischen Fakultät.

Dekan: Prof. Dr. Keller

Berichterstatter: Prof. Dr. Hildebrandt

Tag der mündlichen Prüfung: 21. 11. 1953.

Inhaltsübersicht

	Seite
A Einleitung	5
B Methodik	6
C Verodigen in Ringerlösung	8
1. Wirkungsweise	8
2. Wirkungsgeschwindigkeit	11
3. Wirkung verschiedener Konzentrationen	12
4. Bindungs- und Wirkungsphasen	15
5. Haftfestigkeit	18
D Verodigen in Serum	19
1. Methodik	19
2. Serumwirkung auf das isolierte Froschherz	20
3. Wirkung verschiedener Konzentrationen	21
4. Haftfestigkeit	23
E Zusammenfassung	24
F Literaturverzeichnis	25
Lebenslauf	27

A. Einleitung

Im Zuge von Arbeiten im Pharmakologischen Institut über die Bindungsfähigkeit von Reinglykosiden durch Serum wurde mir die Aufgabe gestellt, experimentell festzustellen, ob und wieviel des herzwirksamen Glykosids *Verodigen* an Blutserum gebunden wird.

Nach HOEKSTRA (1) besteht zwischen den in der *Digitalis pupurea* enthaltenen Reinglykosiden Digitoxin und Gitalin ein prinzipieller Unterschied in der Richtung, daß Digitoxin infolge Bindung an die Eiweißfraktion des Blutes am isolierten Froschherzen unwirksam wird, während Gitalin voll wirksam bleibt, weil ihm diese Bindungsfähigkeit fehlt. Eingehende Untersuchungen darüber hat SUTER (2) angestellt und eine ganze Reihe von Glykosiden auf ihre Bindung an Eiweiß geprüft. Unter Erweiterung der Befunde von HOEKSTRA stellt er dabei fest, daß in Bezug auf das Verhältnis der einzelnen Glykoside grundsätzlich 2 Gruppen unterschieden werden können:

1. solche, die gar nicht durch Serumeiweiß gebunden werden, und
2. solche, die vom Serumeiweiß gebunden werden, aber in ganz verschiedenem Ausmaß.

Nach ROTHLIN und KALLENBERGER (3) sind nur die Albumine zur Glykosidbindung befähigt, während Globuline und Fibrinogen die Glykosidbindung gar nicht beeinflussen, also für die typische Glykosidbindung nicht in Frage kommen.

Die Frage nach der Art der Glykosidbindung ist noch nicht geklärt. Das Wahrscheinlichste ist — nach SUTER (2) —, daß eine Adsorptionsbildung im Sinne einer schuttkolloidartigen Wirkung durch das Blutalbumin vorliegt. Dieses trifft voraussichtlich für alle Glykoside zu, nur ist sie graduell außerordentlich verschieden. Das Albumin hat nach dieser Auffassung für alle Glykoside eine Vehikelfunktion.

LENDLE u. a. (4) lehnen eine Bindung durch Adsorption ab und führen dieselbe auf Nebervalenzen, vielleicht der freien Laktongruppe der Glykoside zurück.

SUTER (2) glaubt dagegen, die Verschiedenheit der chemischen Konstitution der Aglykone als primäre Ursache sowohl für die physikalisch-chemische Erscheinung der Glykosid-Albuminbindung als auch für die pharmakodynamische Wirkungsweise verantwortlich machen zu können.

Das untersuchte *Verodigen* wurde Herrn Prof. Dr. Hildebrandt in Substanz von der Fa. C. F. Boehringer & Söhne in Mannheim, Waldhof, freundlich zur Verfügung gestellt.

Als Ausgangslösung wurde eine Stammlösung 1 : 500 in 80% Alkohol hergestellt, die haltbar war.

Als Verodigen ist unter diesem Namen das weitgehend gereinigte Gitalin von KRAFT (5) durch STRAUB und KREHL (1919) (6) in die deutsche Therapie eingeführt worden. Das von KRAFT (5) zuerst dargestellte Gitalin, die wasserlösliche Glykosidfraktion der *Digitalis purpurea*-Blätter, hat für die Verwertung der Droge Bedeutung gewonnen (Verodigen).

Hatte KRAFT (5) noch geglaubt, daß Gitalin ein einheitlicher Körper sei, so wies KILIAN (7) aber bald nach, daß das Gitalin ein Gemenge war.

CLOETTA (8) konnte zuerst Gitalin kristallisiert darstellen. Er legte ihm die Formel $C^{17} H^{28} O^6$ zugrunde.

WINDAUS (9) weist jedoch die Cloettasche Bruttoformel zurück und machte die Formel $C^{35} H^{56} O^{12}$ wahrscheinlich. Das Mol.-Gewicht gibt er an mit 720 (statt 317 von Cloetta). KUSSNER (10) sieht die Existenz des Gitalins als drittes Digitalisblatt-Glykosid neben Digitoxin und Gitoxin als nicht bewiesen an und stützt seine Behauptung auf Arbeiten von JAKOBS und GUSTUS, STOLL (zitiert nach KUSSNER, 10) und eigene Erfahrungen, weshalb Gitalin aus der Reihe der einheitlichen Digitalis-Wirkstoffe gestrichen werden solle.

KNAFFL-LENZ (11) schließt aus vergleichenden Wertungen an Frosch, Maus, Meerschweinchen und Katze, daß Verodigen mit Gitoxin identisch sei. Nach WEESE (12) steht Verodigen als rasch resorbierbares Therapeutikum denjenigen Präparaten genuiner Glykoside nahe, die mit Recht als „standardisiertes, haltbares Infus die offizinellen festen und wässrigen Zubereitungen mit ihrem Nachteil rascher Zersetzung stark zurückdrängen dürften.“

B. Methodik

Die Versuche wurden am isolierten, spontan schlagenden Froschherzen nach der Straubschen Methode in den Monaten Januar und Februar 1953 durchgeführt. Untersucht wurde die allgemeine Wirksamkeit des Verodigens auf das Herz, seine Haftfestigkeit, Art und Dauer des Bindungsablaufes und Bindung des Verodigens an Blutserum.

Als Versuchstiere standen mir über 150 männliche Temporarien zur Verfügung, die in der Tierhaltung des Instituts bei etwa 8—10° C ohne Nahrungszufuhr gehalten wurden. Die für die Versuche bestimmten

Tiere wurden jeweils 24 bis 48 Stunden vor Beginn in den Versuchsraum gebracht mit einer Temperatur von 20 bis 23° C, um sie an die erhöhte Temperatur zu gewöhnen. Wird den Fröschen diese Anpassungszeit nicht gewährt, so bleiben die präparierten Herzen mitunter vor der Glykosidzufuhr in extremer Diastole stehen.

Die schonend präparierten, spontan schlagenden Herzen wurden an die Straubsche Kanüle gebunden, die ein Lumen von 8 mm hatte. Bei allen Versuchen wurden nur zwei Kanülen benutzt, um Streuungen durch verschiedene Kanülenformen und -öffnungen möglichst auszuschalten.

Die Kanüle wurde mit Kaltblüter-Ringerlösung folgender Zusammensetzung gefüllt:

Na Cl	6.0
K Cl	0.075
Ca Cl ₂	0.1
Na H CO ₃	0.1
Aqua dest.	ad 1000.0

Um den Normal-pH-Wert von 7,4 unbeeinflusst zu halten, wurde die Ringerlösung spätestens nach 48 Stunden frisch hergestellt.

Das Kriterium für die Beurteilung der Wirksamkeit einer Glykosid-Konzentration in den untersuchten Lösungsmitteln (1.u. 2) ist das Eintreten oder Nichteintreten des systolischen Herzkammerstillstandes innerhalb von sieben bis elf Minuten, wobei sehr häufig die Vorhöfe, die weniger glykosidempfindlich sind, noch einige Zeit weiterschlagen. Durch die Beschränkung der Stillstandszeit auf sieben bis elf Minuten wird die Streuung der Versuchsergebnisse auf ein Minimum herabgesetzt; denn sowohl längere wie kürzere Zeiten weisen größere Streuung auf.

Das Herz arbeitete an der Kanüle in einer feuchten Kammer, deren Feuchtigkeitsgehalt durch einen mit Aq. dest. getränkten Wattebausch aufrecht erhalten wurde.

Die Kanülenfüllung wurde konstant auf einem Kubikzentimeter gehalten, um unterschiedliche Ergebnisse durch Druckschwankungen zu vermeiden.

Zur Leerung der Kanüle diente eine Injektionsspritze mit einer der Kanülenwand entsprechend gebogenen Nadel, die eine fast vollständige Beseitigung der Giftlösung schon bei einer einmaligen Entleerung der Kanüle gewährleistete.

Die Verodigen-Lösungen wurden täglich aus der 0,2prozentigen Stammlösung durch entsprechendes Verdünnen mit Ringerlösung oder Serum frisch hergestellt.

Eine Durchperlung des Serums mit Luft oder Sauerstoff in der Kanüle war nicht möglich, da der Kanüleninhalt zu stark aufschäumte. Zwecks besserer Vergleichsmöglichkeit zwischen den Ergebnissen der Glykosidwirkung in Ringer und Serum habe ich auch von einer Durchperlung der Glykosid-Ringerlösung abgesehen, solange diese Versuche 15 Minuten nicht überschritten.

Die Zeitmarkierung auf allen Kurven beträgt 30 Sekunden.

C. Verodigen in Ringerlösung

1. Wirkungsweise

Bezüglich des allgemeinen Verlaufes der Verodigen-Wirkung konnte ich folgendes beobachten:

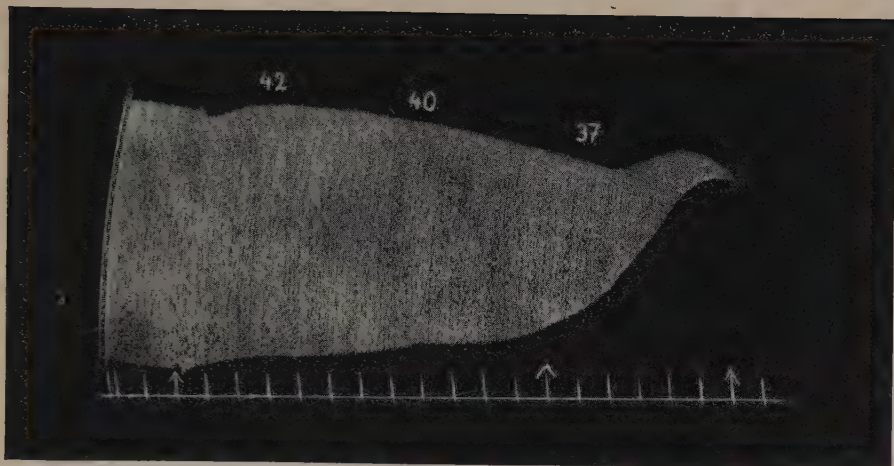
Der erste sichtbare Effekt nach Zuführung der Giftlösung, die Phase der therapeutischen Wirkung, bei der außer dem Ansteigen der Herzfrequenz auch eine Vergrößerung der Hubhöhe eintritt, konnte ich bei der Vergiftung mit Verodigen mehrfach beobachten. Die Konzentrationen über 1:100 000 lassen jedoch diese Phase gar nicht oder nur sehr undeutlich erkennen.

In der Regel machte sich die beginnende Vergiftung zwar mit einem leichten Ansteigen der Frequenz bemerkbar, aber ohne Vergrößerung der Hubhöhe begann bald nach dem Verschwinden der diastolischen Schleuderung der Anstieg der diastolischen Fußpunkte. Dazu kam meist ein geringer Abfall der Gipfelpunkte. Der gegen Ende der Kurve steile Anstieg der Fußpunkte ergibt für die Verodigen-Wirkung das charakteristische Bild des tonischen Ventrikel-Stillstandes in der Systole, wie es im allgemeinen bei der Vergiftung mit Digitalis-Glykosiden auftritt.

Bei meinen Versuchen sah ich drei verschiedene Arten von Kurven:

Wie Abb. 1 zeigt, steigen kurz nach der Zugabe der Giftlösung zunächst die diastolischen Fußpunkte flach, später gegen Ende der Vergiftung steil an, wobei die diastolische Schleuderung immer mehr verschwindet.

Abb. 1



Tonischer Ventrikelstillstand in Systole

Abb. 2



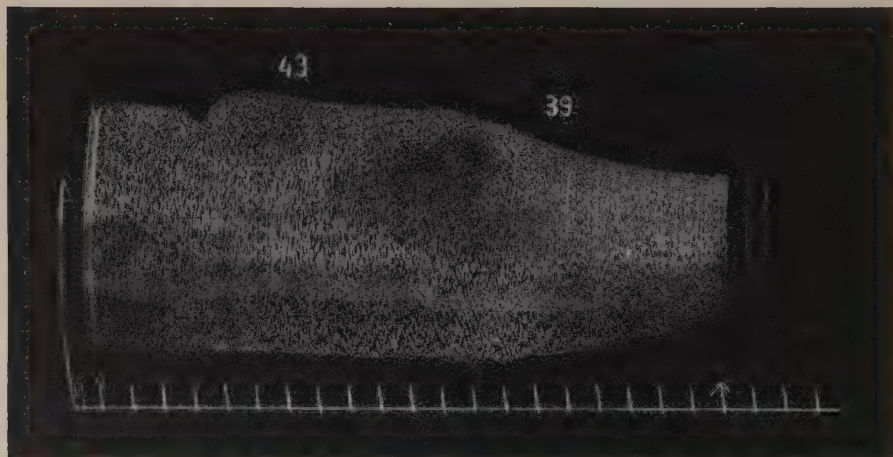
Ventrikelstillstand in Mittelstellung

Die Gipfelpunkte steigen zuerst ein wenig, fallen dann aber langsam bis sie kurz vor dem Stillstand wieder etwas ansteigen, um dann auf die Höhe der gestiegenen Fußpunkte zu fallen, in die Nähe der ursprünglichen Gipfelpunkte, wo der Ventrikel bei diesem toxischen Endzustand in typisch tonischer Kontraktur verharret.

Die zweite Möglichkeit zeigt Abb. 2. Dabei steigen zwar auch die diastolischen Fußpunkte an, gleichzeitig aber fallen die Gipfelpunkte ab, sodaß der Ventrikel etwa in der Mitte der ursprünglichen Hubhöhe zum Stillstand kommt. Meist wurde diese Erscheinung bei den später zu beschreibenden Versuchen mit Serum-Glykosid-Verdünnung beobachtet.

Diese Beobachtung beschreiben u. a. JAHN (13) bei Versuchen mit einem Bowiea-Glykosid und SEIBEL (14) bei Versuchen mit Digitoxin. LENZ (15) führt diese Erscheinung, die er bei Versuchen mit Digitoxigenin ebenfalls feststellte, auf die Partialwirkung des Genins zurück, wobei die Dämpfung der rhythmischen Sinusimpulse im vergifteten Reizbildungs- und -leitungs-System und die Abnahme der ventrikulären Erregbarkeit mitwirken sollen.

Abb. 3



Ventrikelstillstand in Diastole

Den typischen diastolischen Stillstand zeigt Abb. 3. Das mit der Konzentration 1:100 000 vergiftete Herz bleibt nach zehn Minuten Schlag-

zeit plötzlich in der Diastole stehen. Die Hubhöhe ist an dieser Stelle so hoch, daß ein Stillstand hier noch nicht erwartet wird.

Diese plötzlich auftretenden Stillstände konnte ich bei meinen Versuchen immer wieder beobachten, wie sie auch von SEIBEL, JAHN u. a. für andere Herzglykoside beschrieben werden.

Die angewandten Konzentrationen waren für die Häufigkeit des Vorkommens bedeutungslos. Inwieweit länger dauernde Versuche diese Erscheinung begünstigten, wurde nicht näher untersucht.

Nach Auffassung von SCHLOSSMANN (16), WINTERFELD (17), JAHN (13) u. a. wird diese Erscheinung auf eine Vergiftung des Reizbildungs- und -leistungs-Systems zurückgeführt.

Die Schädigung des Reizbildungs- und -leitungs-Systems kann sich auch in Arrhythmien zeigen, die sich meist kurz vor dem tonischen Ventrikel-Stillstand einstellen und eine Zunahme der Hubhöhe bewirken können, wobei die Gesamtvergiftungszeit mitunter ganz beträchtlich verlängert sein kann.

Bei der Ermittlung der durchschnittlichen Vergiftungszeit verschiedener Konzentrationen sind alle die Versuche, bei denen Arrhythmien auftraten, nicht ausgewertet worden.

2. Wirkungsgeschwindigkeit

Unter Wirkungsgeschwindigkeit versteht man die Zeitspanne, die das Herz benötigt vom Augenblick der Giftverabreichung bis zum Erreichen des toxischen Endzustandes.

Zahlreiche Autoren haben die Wirkungsgeschwindigkeit in engste Beziehung gebracht zu drei Faktoren: Herzfrequenz, Umgebungstemperatur und Konzentration der Giftlösung.

Nach den heutigen Erkenntnissen spielt der Einfluß der Herzfrequenz auf die Wirkungsgeschwindigkeit nur eine untergeordnete Rolle, wie die Versuche von ISSEKUTZ (18), FISCHER (19), BORNMANN (20) u. a. beweisen. Ich selbst konnte bei meinen Versuchen auch keinen merkbaren Einfluß der Herzfrequenz auf die Wirkungsgeschwindigkeit feststellen.

Eine viel wesentlichere Rolle spielt die Umgebungstemperatur, wobei nach BORNMANN (20) bei einer Temperaturerhöhung ein schnellerer Ablauf des Vergiftungsprozesses stattfinden soll. Nähere Versuche in dieser Richtung habe ich nicht angestellt. Ausführliche Versuche darüber beschreibt GANDER (21).

Die größte Bedeutung für die Wirkungsgeschwindigkeit besitzt die Konzentration der Giftlösung. Es ist nicht nur Tatsache, daß mit steigender Konzentration der Vergiftungsprozeß schneller abläuft, sondern hierbei lassen sich auch gewisse Gesetzmäßigkeiten erkennen, die später besprochen werden sollen.

Zunächst wurde die Grundlage geschaffen für weitere Versuche, indem nach dem Vorgehen früherer Untersucher die Konzentration gesucht wurde, für die die Stillstandszeit acht bis zehn Minuten beträgt. Dabei wurde ermittelt, daß die Wirkungsgeschwindigkeit für die Konzentration 1:100 000 im Mittel 9' 9" beträgt. Über die der anderen Konzentrationen gibt die Tabelle 1 Auskunft.

Ganz allgemein ist zu sagen, daß eine einfache Abhängigkeit zwischen der Konzentration und der Wirkungsgeschwindigkeit nur für ein ganz eng begrenztes Konzentrationsgebiet gilt, da sich die Bindungsverhältnisse sowohl bei maximalen wie auch bei minimalen Konzentrationen weitgehend verändern.

Tabelle 1

Nr.	1:75 000	1:100 000	1:125 000	1:200 000	1:500 000	1:1 Mill.
1	4'	9'30	9'	8'	10'	60'
2	6'	10'30	10'30	14'	24'30	
3	6'	9'30	14'	16'		
4		9'10	9'30			
5		8'				
6		9'20				
7		9'				
8		10'				
9		8'30				
10		8'				
ϕ	5'20	9'9	10'45	11'	16'50	60'

Verodigen in Ringerlösung

3. Wirkung verschiedener Konzentrationen

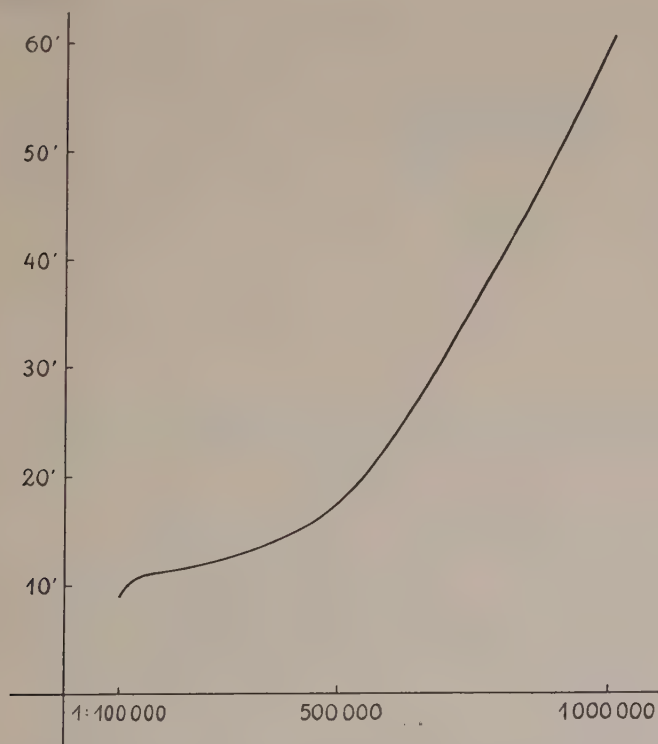
An einem Material von etwa 100 Fröschen, nur mittelgroßen, männlichen Temporarien, machte ich Versuche mit verschiedenen Verodigen-Konzentrationen laut Tabelle 1.

Dabei wurde die Wirkungsgeschwindigkeit registriert, d. h. die von der Verabreichung des Giftes bis zum Eintritt des tonischen Ventrikel-Stillstandes vergangene Zeit. Verschiedentlich wurde versucht, durch Auswaschen der Kanüle mit Ringerlösung das stillstehende Herz wieder zu Kontraktionen zu veranlassen. Diese Auswaschversuche werden im Kapitel 5 — Haftfestigkeit — näher ausgewertet.

Die Tabelle 1 zeigt, daß von den Konzentrationen 1:75000 bis 1:1 000 000 jeweils mehrere Herzen vergiftet wurden. Die Vergiftungszeiten jeder Konzentration wurden addiert und die Summe durch die Zahl der vergifteten Herzen dividiert, um die durchschnittliche Wirkungsgeschwindigkeit zu erhalten.

Dabei zeigt sich nun, daß bei der Konzentration 1:75000 die Stillstandszeit 5' 20" beträgt, die bis zur Konzentration 1:500 000 auf 16' 50" ansteigt. Die höchste untersuchte Konzentration mit 1:1 000 000 ergab eine Stillstandszeit von 60'. Die Kurve (Tabelle 2) zeigt an ihrem Beginn einen flachen Verlauf bis zur Konzentration 1:500 000 und darüber hinaus einen weiteren steilen Anstieg, d. h. daß mit einer Konzentration über 1:1 000 000 kaum noch ein Stillstand erreichbar sein dürfte.

Tabelle 2



Wirkungsverlauf von Verodigen in Ringerlösung

In dem Konzentrationsbereich zwischen 1:500 000 und 1:1 000 000 wird auch für Verodigen das sogenannte „Gebiet der optimalen Konzentration“ liegen, in dem die Konzentration linear zur Stillstandszeit wächst. Diese Konzentrationen stellen, wie FISCHER (19) sagt, „das Gebiet der minimalen Konzentration mit der größten Wirkungsgeschwindigkeit“ vor, denn bei Erhöhung der Konzentration nimmt die Wirkungsgeschwindigkeit recht wenig ab, und bei weiterer Verdünnung auf 1:1 000 000 fällt die Wirkungsgeschwindigkeit in viel erheblicherem Maße ab, als man es der Verdünnung nach erwarten müßte. Auf weitergehende Untersuchungen der schwachen Konzentration über 1:1 000 000 glaubte ich verzichten zu können, da die Herzen unter den unphysiologischen Versuchsbedingungen wegen der langen Versuchsdauer kaum verwertbare Ergebnisse zeitigen dürften.

Nach meinen Untersuchungen stellt somit die Konzentration 1:1 000 000 die toxische Grenzkonzentration für Verodigen dar, d. h. sie ist die minimale Konzentration, die nach Einwirkung auf das isolierte Froschherz dieses gerade noch zum toxischen Stillstand bringt bei einer Umgebungstemperatur von 20 bis 23° C. Für die Wirksamkeit des Verodigens am isolierten Froschherzen wurde von CLOETTA und Mitarbeitern (zit. nach LENDLE, 22) als mittlerer, systolisch lähmender Grenzwert die Konzentration 1:100 000 bis 125 000 ermittelt, ein Ergebnis, das ich durch meine Versuche bestätigen konnte.

Nach GANDER (21) beträgt die toxische Grenzkonzentration für Gitalin 1:80 000 bis 100 000 bei einer Umgebungstemperatur von 18 bis 20° C.

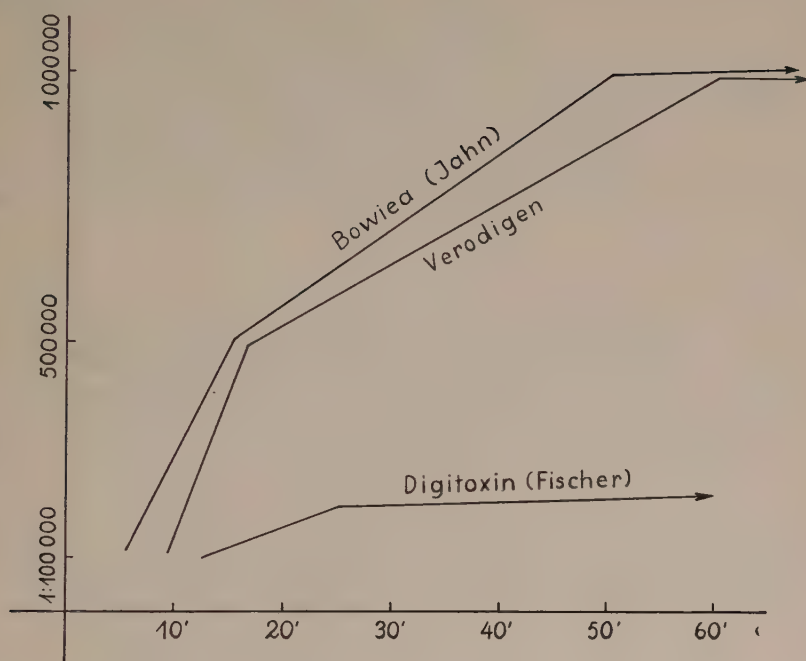
DE GIACOMI (23) ermittelte die toxische Grenzkonzentration für Gitalin mit 1:100 000 bis 125 000, allerdings ohne Berücksichtigung des Temperatureinflusses, auf den GANDER (21) besonders hinweist.

Beide Werte liegen erheblich unter den von mir ermittelten, fand ich doch die toxische Grenzkonzentration mit 1:1 000 000.

Zum Vergleich führe ich die Tabelle 3 auf, in der die Wirkungsgeschwindigkeiten für ein Bowiea-Glykosid (JAHN), Digitoxin (FISCHER) und das untersuchte Verodigen in Kurvenform aufgezeichnet sind.

Bei der Vergleichstabelle ist zu berücksichtigen, daß die Versuchstemperatur bei den einzelnen Autoren zwischen 17 und 23° C schwankt. Dadurch bedingte Unterschiede halte ich nicht für so schwerwiegend, daß ich auf einen Vergleich verzichten sollte.

Tabelle 3



Wirkungsverlauf verschiedener Herzgifte

4. Bindungs- und Wirkungsphasen

FISCHER (19) hat in einer umfassenden Arbeit die physikalisch-chemischen Vorgänge der Glykosid-Vergiftung am isolierten Froschherzen untersucht und den Vergiftungsverlauf in zwei verschiedene *B i n d u n g s p h a s e n* eingeteilt. Am Anfang der Glykosid-Vergiftung stehen Diffusions- und Adsorptionsvorgänge mit lockerer, reversibler Bindung des Glykosids an den Herzmuskel, die nur kurz dauern und als Membranphase bezeichnet werden. Das Ende der Membranphase liegt am Ende jener Zeitspanne, bei der nach Entfernen der Giftlösung und mehrmaligem Auswaschen mit Ringerlösung keine Verkleinerung der Hubhöhe und keine Frequenzänderung mehr eintreten, auch nicht nach mehrmaliger Gifteinwirkung. Wird die Membranphase überschritten, so beginnt nach FISCHER (19) die sogenannte Fixationsphase, in der die chemischen Vorgänge im Vordergrund stehen. Am Kurvenbild zeigen sich jetzt die im Kapitel 1 beschriebenen charakteristischen Veränderungen.

Der Beginn der sichtbaren Glykosid-Vergiftung ist jedoch nicht mit dem Einsetzen der Fixationsphase gleichzusetzen, auch das Ende ist aus dem Kurvenlauf nicht zu ersehen. Vielmehr bezeichnet die Fixationsphase die Zeitspanne, in der das Herz die insgesamt mögliche Giftsubstanz bindet, und die nur einen Teil der bis zum Herzstillstand benötigten Zeit darstellt. Das Ende der Fixationsphase ist nach FISCHER (19) in dem Augenblick erreicht, wenn trotz Entfernung der Gifflösung und mehrmaliger Auswaschung der Ventrikelstillstand in der normalen Zeit eintritt, so, als wäre die Gifflösung in der Kanüle belassen worden.

Tabelle 4

Nr.	Konzentration	Einwirkungszeit	Versuchsdauer	Stillstandseintritt
1	1 : 50 000	—'45"	100'	—
2	1 : 100 000	—'45"	75'	—
3		1'	90'	—
4		2'	90'	—
5		2'30	98'	—
6		3'	101'	—
7		3'	90'	—
8		4'	92'	—
9		4'30	95'	—
10		5'	32'	+
11		5'	89'	+
12		5'	15'	+
13	1 : 200 000	1'	97'	—
14		1'30	72'	—

Wirkung von Verodigen in verschiedenen Konzentrationen

Tabelle 4 zeigt, daß mehrere Herzen bei einer Glykosid-Konzentration von 1:100 000 mit steigender Einwirkungszeit vergiftet wurden. Ein Stillstand trat ein bei allen drei untersuchten Herzen nach einer Einwirkungszeit von fünf Minuten. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß die Herzen eine erheblich längere Zeit schlugen, als bei den in Tabelle 1 beschriebenen Versuchen, wo die Stillstandszeit aus einer Serie von zehn Herzen mit neun bis zehn Minuten errechnet wurde. Bei der Konzentration 1:50 000 mit einer Einwirkungszeit von 45" und bei der Konzentration 1:200 000 mit Einwirkungszeiten von 1' und 1' 30" kamen die Herzen trotz der langen Versuchsdauer nicht zum Stillstand.

Für die Konzentration von 1:100 000 beträgt also die Fixationszeit mindestens fünf Minuten.

Zum Vergleich führe ich die Fixationszeiten für Digitoxin von FISCHER (19) an:

1 : 50 000 = 3 bis 4 Minuten

1 : 100 000 = 6 bis 8 Minuten

1 : 200 000 = 12 bis 16 Minuten

Die Wirkungsphasen

Die am Kurvenbild sichtbar werdenden Erscheinungen der Glykosid-Vergiftung hat FISCHER (19) wie folgt eingeteilt:

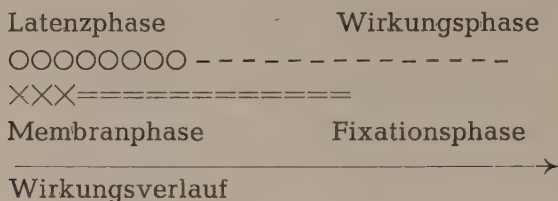
1. Die *Latenzphase* umfaßt denjenigen Abschnitt, der noch keine Änderung der Herztätigkeit erkennen läßt.
Im allgemeinen ist die Latenzphase für Verodigen auf den Kurven nicht zu erkennen.
2. Die *therapeutische Phase* zeigt den ersten pharmakologischen Effekt nach der Giftverabreichung, bei der die Herzfrequenz ansteigt und die Hubhöhe sich vergrößert. Wie schon im Kapitel 1 — Wirkungsweise — gesagt wurde, ist diese therapeutische Phase nur wenig in Erscheinung getreten.
3. Die *toxische Phase* beginnt mit dem Anstieg der diastolischen Fußpunkte und dem Verschwinden der diastolischen Schleuderung und endet mit dem Herzstillstand. Die beiden letzten Phasen werden als Wirkungsphase der Latenzphase gegenübergestellt.

Der Verlauf der toxischen Phase mit ihren Variationsmöglichkeiten ist im Kapitel 1 beschrieben worden.

FISCHER (19) konnte in eingehenden Versuchen beweisen, daß die Membranphase früher beendet ist als die Latenzphase, und daß demzufolge auch die Fixationsphase früher beginnt als die Wirkungsphase; denn obwohl in der zweiten Hälfte der Latenzphase noch keine sichtbaren Veränderungen am Kurvenbild auftreten, ist doch schon ein Teil der Giftsubstanz irreversibel fixiert. Die Fixationsphase ihrerseits ist nun wieder früher beendet als die Wirkungsphase, wie aus dem vorigen Abschnitt hervorgeht.

Diese Darlegungen besagen, daß sich die Bindungsphasen mit den Phasen der sichtbaren Wirkung nicht decken, sondern regelmäßig

überschneiden. In der Skizze sind diese Verhältnisse schematisch dargestellt.



Für Verodigen ist dabei zu sagen, daß die Fixationszeit im Verhältnis zur Wirkungsphase sehr lange ist, wie überhaupt bei Digitalis-Substanzen mit langdauernden Fixationszeiten die Giftigkeit sehr stark ist.

5. Haftfestigkeit

Die Haftfestigkeit eines Glykosids ist abhängig von der Auswaschbarkeit; sie ist um so größer, je weniger auswaschbar die Giftsubstanz ist.

Die im Kapitel 3 beschriebenen Versuche benutzte ich zum Teil, indem ich nach Eintritt des tonischen Ventrikel-Stillstandes die Giftlösung entfernte und die Kanüle mehrfach mit Ringerlösung durchspülte. Durch die der Kanülenwand entsprechend gebogenen Nadel, die fast bis zum Kanülenende reichte, konnte mit jeder neuen Spülung ein starker Dehnungsreiz auf den stillstehenden Ventrikel ausgeübt werden.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 5 geordnet.

Tabelle 5

Nr.	1:50 000	1:100 000	1:125 000	1:200 000	1:500 000	1:1 Mill.
1	○	○	○	○	—	—
2		○	—	—	—	—
3		—			—	
4		—			—	
5		—				
6		—				

Haftfestigkeit von Verodigen in Ringerlösung

x = voll auswaschbar, trifft für Verodigen nicht zu;

— = nicht auswaschbar;

○ = bedingt auswaschbar.

Dabei ist zu sagen, daß eine volle Reversibilität des Stillstandes nie erreichbar war. Nur einige kleinere, kurze Zeit andauernde Herzaktionen traten auf.

DE GIACOMI (23) erzielt gleiche Versuchsergebnisse und bezeichnet daher die Gitalin-Glykoside als bedingt auswaschbare Körper. Besonders wichtig ist der Umstand, daß mit sehr starken Verdünnungen zum Stillstand gebrachte Herzen keine Auswaschergebnisse mehr zeitigen. Während bei der Konzentration 1:100 000 von sechs ausgewaschenen Herzen noch zwei gering weiterschlugen, war es bei der Konzentration 1:500 000 von vier Versuchen nicht mehr möglich, noch ein Herz zum Schlagen zu bringen.

Die Ergebnisse der Versuche mit Glykosid-Serum-Lösung werden später näher beschrieben.

Ich kann hier JAHN (13) zitieren, der folgendes ausführt:

„Die an mit Digitoxin vergifteten Herzen gemachten Auswaschversuche von Fischer und von De Giacomini zeigen, daß es niemals gelang, ein mit Digitoxin zum tonischen Stillstand gebrachtes Herz wieder zu normaler Tätigkeit zu veranlassen. Eine Digitoxin-Vergiftung des Froschherzens bedingt demnach immer einen irreversiblen Stillstand. Strophantin ist nach den Untersuchungen von Bornmann am Eskulentenherz sogar bei einer Konzentration von 1:10 000 auswaschbar.“

Diese Versuchsergebnisse treffen voll auch für Verodigen zu.

D. Verodigen in Serum

1. Methodik

Zu den Versuchen über das Serumbindungsvermögen von Verodigen wurde Rinderserum verwandt, das aus dem Blut von Junggrindern gewonnen wurde, welches bei der Schlachtung eben getöteter Tiere in einem sterilen Glaszylinder ohne jeden Zusatz und möglichst wenig schäumend aufgefangen wurde. Der Zylinder mit Inhalt blieb etwa vier Stunden bei Zimmertemperatur stehen und der Blutkuchen wurde zur Förderung des Serumaustrittes beschwert. Nach 24 Stunden wurde bei 3000 U/min abzentrifugiert.

Das Serum hatte einen pH-Wert von etwa 7,4, also analog der Kaltblüter-Ringer-Lösung. Es konnte im Kühlschrank etwa acht Tage lang aufbewahrt werden, ohne daß Abweichungen hinsichtlich des pH-Wertes, der Konsistenz, des Aussehens oder des Geruches sich zeigten. Das Serum wurde vollständig ohne Zusatz von Chloroform oder

Phenol verwandt, da sonst Nebenwirkungen auftreten können. Ohne Rücksicht auf eine Hypertonie des Serums wurde unverdünntes Rinderserum verwandt, da dessen Eigeneffekt auf das Froschherz, der sogenannte Serumeffekt, durch seine Konstanz die Ergebnisse im Prinzip nicht beeinflussen kann, wie SUTER (2) durch seine Versuche zeigt.

2. Serumwirkung auf das isolierte Froschherz

Der Serumeffekt besteht in einer primären Hemmung und einer sekundären Zunahme der Hubhöhe bis zu einem Drittel bei gleichbleibender Frequenz. Die Hubhöhe läßt dann kontinuierlich leicht nach, bleibt aber dann auf einem Wert beharren, der etwa ein Viertel höher liegt als der Ringerwert. Auf die Stillstandszeit des Herzens hat der Serumeffekt keinen Einfluß.

Wie SUTER (2) durch seine Versuche mit der Ultrafiltration von Serum gezeigt hat, sind wir nicht nur berechtigt, unverdünntes Serum zu verwenden, sondern wir erfassen nur auf diese Weise den Einfluß des Serums auf die Glykosid-Wirksamkeit vollständig. Da genuines Blut den Serumeffekt nicht hervorruft, ist nach SUTER (2) dieser auf die durch die Gerinnung entstehenden Substanzen zurückzuführen. Die Art und Weise der Bindung herzwirksamer Glykoside an das Serum ist sehr umstritten.

Bei meinen Versuchen ging ich so vor, daß die Verodigen-Stamm-lösung 1:500 mit Rinder-Serum, das auf die oben beschriebene Art gewonnen wurde, auf die entsprechenden Konzentrationen verdünnt wurde. Um die Bindefähigkeit des Serums für Verodigen zu untersuchen, wurde die Ringer-Lösung in der Karüle durch die Verodigen-Serum-Verdünnung ersetzt.

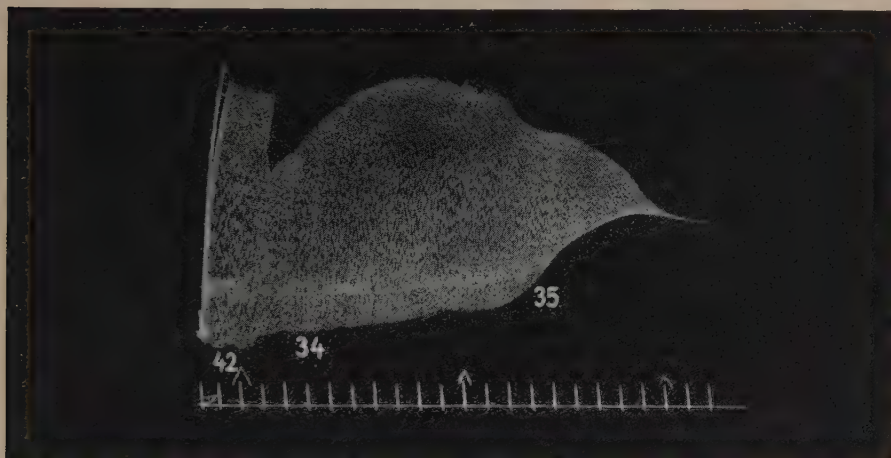
Nach Zugabe der Giftlösung wurde — durch den Serum-Effekt bedingt im Gegensatz zu den Versuchen mit Ringerlösung — fast regelmäßig ein zunächst starkes Abfallen der Hubhöhe auf etwa $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{3}$ der ursprünglichen Hubhöhe festgestellt. Das Herz erholte sich aber sehr rasch wieder und die ursprüngliche Hubhöhe wurde meist erheblich überschritten. Gleichzeitig setzte im allgemeinen sofort nach Zugabe der Giftlösung das Ansteigen der diastolischen Fußpunkte ein, bis das Herz meist in Mittelstellung zum Stillstand kam. Siehe Abbildung 4.

Dieser tonische Ventrikelstillstand in Mittelstellung wird auch von BEUTEL (24) in seiner Arbeit über das Serumbindungsvermögen ver-

schiedener herzwirksamer Glykoside erwähnt, und auch SEIBEL (14) u. a. beschreiben diesen Effekt.

Der Herzstillstand kam jedoch in einigen wenigen Fällen auch in der Nähe der Gipfelpunkte zustande, wie es die Abbildung 1 zeigt.

Abb. 4



Verodigen in Serum

3. Wirkung verschiedener Konzentrationen

Über die Stillstandszeiten bei verschiedenen Glykosid-Serum-Konzentrationen gibt die Tabelle 6 genauere Auskunft.

Tabelle 6

Nr.	1:20 000	1:25 000	1:33 000	1:50 000
1	4'	6'	12'	11'
2			9'	12'
3			9'	16'
4			11'	16'
5			10'	
6			10'	
7			9'30"	
8			7'30"	
9			6'30"	
10			7'30"	
Ø	4'	6'	9'12"	13'45"

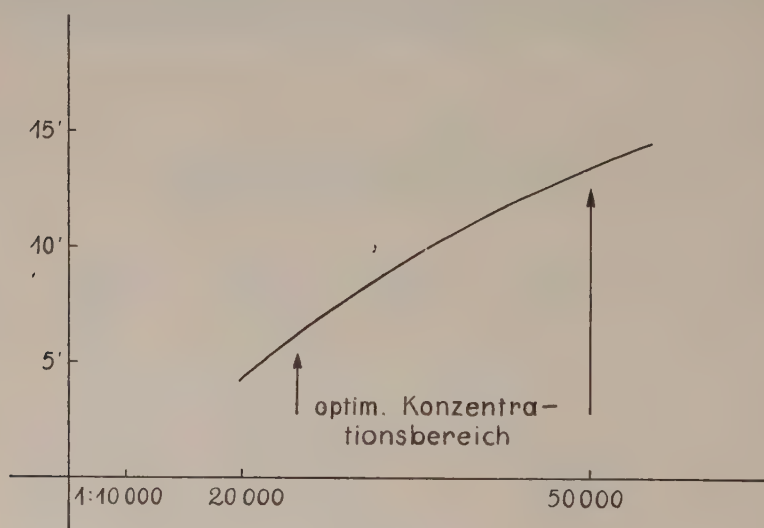
Verodigen in Serum

Bemerkenswert ist, daß die Stillstandszeiten für die Verdünnung 1:100 000 in der Ringer-Lösung mit der der Verdünnung 1:33 000 in Serum sich fast decken, d. h. daß die Konzentration in Serum dreimal so stark sein muß wie bei der Ringer-Lösung, um den gleichen Effekt zu erzielen.

Daraus läßt sich die pro mg Albumin gebundene Verodigen-Menge in millionstel Gramm errechnen.

Rinderserum enthält nach den Angaben von ROTHLIN (3) vier Prozent Albumin und, wie oben erwähnt, ist Albumin für die Bindungsfähigkeit verantwortlich, während die anderen Eiweißfraktionen (Globuline und Fibrinogen) keine Bindungsfähigkeit aufweisen. Da das Wirkungsverhältnis in Serum dreimal schwächer ist als in Ringer, sind zwei Drittel der Glykosidmenge bei der Konzentration 1:33 000 an die vier Prozent Albumin gebunden, während das restliche Drittel ja in Serum voll wirksam bleibt. In einem Kubikzentimeter der Serumlösung sind 40 Milligramm Albumin enthalten und diese 40 Milligramm binden zwei Drittel der Glykosid-Konzentration 1:33 000, das sind 20 Gamma Glykosid; oder ein Milligramm Albumin bindet 0.5 Gamma Verodigen.

Tabelle 7



Wirkungsverlauf von Verodigen in Serum

Weiterhin ist zu sagen, daß die Wirkungsgeschwindigkeit etwa verdoppelt wird für den Bereich von der Konzentration 1:25 000 bis 1:50 000 in Serum. Steigt doch hier die Stillstandszeit von sechs Minuten auf etwas über 13 Minuten, d. h. für Verodigen in Serum liegt die optimale Konzentration zwischen 1:25 000 und 1:50 000.

Der Wirkungsverlauf ist in Tabelle 7 schematisch dargestellt.

4. Haftfestigkeit von Verodigen in Serum.

Die Haftfestigkeit für die Verodigen-Serum-Lösung ist geringer als für die Verodigen-Ringer-Lösung, war es doch möglich, bei der Konzentration 1:33 000 von vier Versuchen alle Herzen, wenn auch nur kurz, wieder zu Aktionen zu veranlassen. Ein Herz davon schlug volle acht Minuten und erreichte die ursprüngliche Hubhöhe wieder, blieb aber dann plötzlich in extremer Diastole stehen, ohne nochmals zu Konzentrationen veranlaßt werden zu können.

Tabelle 8

Nr.	1:20 000	1:33 000	1:50 000
1	—	○	—
2		○	
3		○	
4		○	

Haftfestigkeit von Verodigen in Serum

— = nicht auswaschbar, d. h. keine Herzaktionen

○ = kurzzeitig, bedingt auswaschbar

E. Zusammenfassung

1. Die Kurvenbilder der mit Verodigen vergifteten Froschherzen gleichen den typischen, mit tonischem Herzstillstand endenden Kontrakturkurven der Digitaliskörper.
2. Verodigen besitzt bei einer Konzentration von 1:100 000 nach Versuchen am Temporarienh Herz eine Wirkungsgeschwindigkeit von etwa neun Minuten.
3. Die toxische Grenzkonzentration für Verodigen liegt bei der Konzentration 1:1 000 000.
4. Die Fixationszeit für Verodigen ist sehr lang. Sie beträgt bei der Konzentration 1:100 000 mindestens fünf Minuten.
5. Die Haftfestigkeit für Verodigen in Ringer-Lösung ist sehr groß.
6. Die Wirkungsgeschwindigkeit der Verodigen-Serum-Konzentration 1:33 000 ist analog der der Glykosid-Ringer-Lösung 1:100 000, d. h. die Konzentration des Verodigens muß für die Serum-Lösung dreimal stärker sein als für die Ringer-Lösung, um den gleichen Effekt zu erzielen.
7. Ein Milligramm Albumin bindet 0.5 Gamma Verodigen.
8. Die optimale Konzentration für die Verodigen-Serum-Lösung liegt zwischen 1:25 000 und 1:50 000.
9. Die Haftfestigkeit ist für die Verodigen-Serum-Lösung geringer als für die Verodigen-Ringer-Lösung.

Literatur-Verzeichnis

1. Hoekstra, R. A., Arch. für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, 162, 649 (1931)
2. Suter, Helv. Physiol. Acta, 2, 211, (1944)
3. Rothlin u. Kallenberger, Arch. Intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie, LXXXI, 4, (1950)
4. Haarmann, W., Korfmacher, K. u. Lendle, L., Arch. f. exper. Path. u. Pharm., 194, 205 (1940)
5. Kraft, F., zitiert nach Lendle
6. Straub u. Krehl, Dtsch. Med. Wschr., 279, 281 (1919)
7. Kiliani, H., zitiert nach Lendle
8. Clöetta, M., Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 112, 261 (1926)
9. Windaus, A., zitiert nach Weese
10. Küssner, W., Arzneipflanzen-Umschau, II, 45
11. Knaffl-Lenz, (1928), zitiert nach Weese
12. Weese, Digitalis, Thieme, Leipzig, 1936
13. Jahn, U., Inaug.-Diss. Gießen, 1951
14. Seibel, E., Arch. f. Kreislauf-Forsch., 18, 49, (1952)
15. Lenz, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 130, 111 (1928)
16. Schloßmann, zitiert nach Bornmann
17. Winterfeld, zitiert nach Bornmann
18. Issekutz, Arch. f. exp. Path. Pharm., 78, 155, (1919)
19. Fischer, ebenda 130, 111 (1928)
20. Bornmann, Arch. f. Kreisl.-Forsch., XIII, 1369 (1919)
21. Gander, J., Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 164, 328 (1927)
22. Lendle, Handb. d. exp. Pharmakol., Erg.-W. 1, 67 (1935)
23. De Giacomi, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 117, 69 (126)
24. Beutel, Inaug.-Diss. Gießen, 1953, im Druck

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. *Hildebrandt* zu danken für die Überlassung des Themas und die allzeit wohlwollende Förderung dieser Arbeit.

Seiner Assistentin, Frl. *M. Becker* danke ich für die Unterstützung, die sie mir besonders bei der Durchführung meiner Versuche zukommen ließ.

Lebenslauf

Am 17. Januar 1923 bin ich, Paul v. d. Wyenbergh, als Sohn des Metzgermeisters Karl v. d. Wyenbergh und seiner Ehefrau Antonie geb. Manten in Kevelaer, Kreis Geldern, Ndrh. geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Kevelaer und Rheinberg, Rhld. von 1929 bis 1934.

Die Höhere Schule besuchte ich in Rheinberg, Steyl b. Venlo, Holland und Neuß a. Rhein, wo ich Ostern 1941 die Reifeprüfung bestand.

Dann wurde ich zum damaligen Reichs-Arbeitsdienst eingezogen und im Oktober 1941 entlassen.

Bis zur Einberufung zum Wehrdienst im April 1942 war ich dienstverpflichtet bei der Waggonfabrik Urdingen/Rh. Am 6. 8. 1945 wurde ich aus englischer Internierung entlassen.

Zum Sommer-Semester 1946 immatrikulierte ich mich in Gießen an der Landwirtschaftlichen Fakultät. Zum Sommer-Semester 1947 wechselte ich zur Veterinär-Medizin über und beendete mein Studium in Gießen mit der Tierärztlichen Prüfung im Frühjahr 1952. Die Approbation erhielt ich nach Ableistung der vorgeschriebenen Praktikantenzeit am 8. Januar 1953.

